

3. 09. 2003

10/518594
17 DEC 2004



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

REC'D 14 OCT 2003

WIPO PCT

Aktenzeichen: 102 27 511.4

Anmeldetag: 19. Juni 2002

Anmelder/Inhaber: MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE
MEDIZIN, Berlin/DE

Bezeichnung: Mittel zur medikamentösen Behandlung von akuten
und chronischen Schmerzen

IPC: A 61 K 31/4184

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 18. August 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Hintermeier

BEST AVAILABLE COPY



Anmelder: MAX-DELBÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN

Erfinder: Dr. Gary Lewin, Jung-Bum Shin

Mittel zur medikamentösen Behandlung von akuten und chronischen Schmerzen

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Mittel zur medikamentösen Behandlung von akuten und chronischen Schmerzen, insbesondere von Allodynia und Hyperalgesia.

Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

Über die Haut, die bei Menschen das größte Sinnesorgan darstellt, werden mechanische Reize unterschiedlicher subjektiver Empfindung wahrgenommen. Die Bandbreite der Empfindungswahrnehmung reicht von leichten Berührungen, Druck und Kitzelgefühlen bis hin zu Schmerzwahrnehmungen bei starken mechanischen Einwirkungen.

Schmerzzustände, die durch einen Stimulus ausgelöst werden, der im Normalzustand kein Schmerzempfinden erzeugt, werden Allodynia genannt. Prominente Beispiele sind eine Überempfindlichkeit der Haut als Folge eines Sonnenbrandes, einer Entzündung oder eines Traumas. Um den Unterschied zur Hyperalgesia klarzustellen, ist es wichtig, festzuhalten, dass Allodynia immer mit einer Veränderung der sensorischen Modalität verbunden ist. Das heisst, dass bei Allodynia z.B. eine Unterscheidung zwischen den Empfindungsmodalitäten „leichte Berührung“ und „Schmerz“ nicht mehr stattfindet, oder anders, dass ein an sich nicht schmerzhafter Stimulus zu Schmerzen führt. Es findet also ein Spezifitätsverlust der sensorischen Modalitäten statt. Dagegen ist bei der Hyperalgesia die Qualität der sensorischen Empfindung nicht verändert. Berührungen werden weiterhin als Berührungen, Schmerzen weiterhin als Schmerzen wahrgenommen. Man ist aber sensibler und empfindet quantitativ eine stärkere Berührung oder Schmerz. Der Übergang zwischen Allodynia und Hyperalgesia ist jedoch in vielen Fällen fließend. Derzeit wird angenommen, dass sowohl periphere als auch zentrale Sensibilisierung des Schmerzsystems zu diesen beiden pathologischen Zuständen beisteuern (Julius D, Basbaum AJ. (2001) Molecular mechanisms of nociception. Nature 2001 413(6852):203-10; Textbook of Pain, (1999) ed. Wall PD and Melzack R. Philadelphia, Pa, WB Saunders, ISBN 0-443-06252-8).

Hyperalgesia und Allodynia treten als Symptome bei verschiedensten Erkrankungen und Verletzungen auf (Epidemiology of Pain (1999), IASP Press, Editors: Iain K. Crombie, Peter R. Croft, Steven J. Linton, Linda LeResche, Michael Von Korffin, ISBN 0-931092-25-6). Als Beispiele genannt seien Syndrome wie rheumatoide Arthritis, Krebsschmerz, Sportverletzungen, chronische und akute Rückenschmerzen, Herpes Zoster und post-operative Schmerzen, die einer intensiven Behandlung bedürfen. Jede weitere Therapiemöglichkeit verfügt daher über ein grosses Marktpotential.

Allodynia ist ein pathologischer Zustand, in denen der Mensch leichte mechanische Reize auf die Haut, die im normalen Zustand lediglich als leichte Berührung oder Kitzel wahrgenommen werden, als Schmerz empfindet. Dies findet wahrscheinlich über eine Veränderung der Verschaltungen im Rückenmark statt.

Die Registrierung der unterschiedlichen Stimuli erfolgt durch die Endigungen von sensorischen Neuronen, die sich im Spinalganglion befinden und deren periphere Ausläufer sich bis in die Enden der Extremitäten erstrecken.

Entsprechend der Anforderungen zur Verarbeitung unterschiedlicher mechanischer Reize ist diese Gruppe von Neuronen sehr heterogen zusammengesetzt. Man unterscheidet sie nach der Leitungsgeschwindigkeit ihrer Axone, der Zellgröße, der Schwelle für mechanische Erregungserzeugung und nach ihrem Adaptationsverhalten:

1. A- β Fasern (über 10 m/sec): Langsam adaptierende SA-Fasern und Schnell-adaptierende RA-Fasern (beide Berührungsrezeptoren)
2. A-delta Fasern (1-10 m/sec): AM-Fasern (Schmerzrezeptor) und D-Haar-Mechanorezeptoren (hoch empfindliche Berührungsrezeptoren)
3. C-Fasern (unter 1m/sec) (Schmerzrezeptoren)

Eine Zusammenfassung der kutanen Mechanorezeptoren bei Menschen gibt Johnson (Kenneth O. Johnson, 2001, The roles and functions of cutaneous mechanoreceptors, Current opinion in neurobiology, , 11;455-461, für Maus: Koltzenburg M, Stucky CL, Lewin GR. Receptive properties of mouse sensory neurons innervating hairy skin. J Neurophysiol. 1997 Oct;78(4):1841-50)

Derzeit werden zwei Klassen von Medikamenten zur Behandlung von Allodynia und Hyperalgesia eingesetzt, die Non-Steroidalen Anti-Inflammatorischen Medikamenten (NSAID)-Klasse (wie Indomethacin und Aspirin) und die Opiate. Letztere wirkt auf das zentrale Nervensystem und ihre Anwendung ist aufgrund der bekannten Nebenwirkungen wie Abhängigkeit und Toleranzentwicklung nur eingeschränkt möglich. Die NSAID üben ihre Wirkung in der Peripherie aus und sind demzufolge in vielen Fällen sicherer und effektiver. Jedoch haben sich NSAID bei chronischen Zuständen wie rheumatische Arthritis nicht bewährt, so dass weitere Medikamententargets gefunden werden müssen. Auf diese Weise könnten einerseits effektivere Medikamente als die NSAID entwickelt werden, andererseits könnten sich diese Medikamentenklassen aufgrund ihrer unterschiedlichen Wirkorte ergänzen und sich in ihrer analgetischen Wirkung gegenseitig verstärken.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein neues Mittel zur medikamentösen Behandlung von akuten und chronischen Schmerzen, insbesondere von Allodynia und Hyperalgesia, zu entwickeln.

Diese Aufgabe wird entsprechend den Ansprüchen gelöst.

Überraschenderweise wurde gemäß vorliegender Erfindung gefunden, daß spannungsabhängige Calciumkanäle an der Transduktion von mechanischen Stimuli durch nozizeptive/non-nozizeptive Neurone beteiligt sind. Eine Blockierung der mechanischen Sensibilität der Haut durch Calciumkanalblocker, wie Mibefradil oder Dihydropyridine, ist demzufolge der Kerngedanke der Erfindung und eröffnet dadurch eine gänzlich neue Behandlung von Schmerzen, wie Allodynia und Hyperalgesia.

Es wird ein neues Arzneimittel zur Behandlung von akuten und/oder chronischen Schmerzen, insbesondere Allodynia und Hyperalgesia zur Verfügung gestellt, umfassend Calciumkanalblocker, die geeignet sind, spannungsabhängige Calciumkanäle, insbesondere des T-Typs, besonders bevorzugt des CaV3.2-Kanals, und/oder des L-Typs zu blockieren. Als Calciumkanalblocker können beispielsweise Mibefradil und Dihydropyridine eingesetzt werden.

Das erfindungsgemäße Mittel kann unter anderem zur Schmerzbehandlung bei rheumatoider Arthritis, Entstehung und Wachstum von Tumoren, Verletzungen, Rückenschmerzen, Herpes Zoster und post-operativen Schmerzen eingesetzt werden.

Die Applikation des erfindungsgemäßen Mittels kann in lokaler, oraler, parenteraler, inhalativer oder intranasaler Form erfolgen. Um die Therapiemöglichkeiten mit dem erfindungsgemäßen Arzneimittel zu erweitern, wird die neue Indikation Schmerz auf alle technisch möglichen Arzneiformen von Mibefradil (siehe Formelblatt 1), seiner pharmazeutisch verträglichen Analogen und von Dihydropyridinen wie Diazepin (siehe Formelblatt 2) beansprucht. Um die Therapiemöglichkeiten zu erweitern, werden in einer weiteren Ausführungsform der Erfindung als lokale Anwendungsformen Salben, Gele oder Cremes und Lösungen oder Suspensionen verwendet. Weiterhin kann das erfindungsgemäße Arzneimittel in ein Pflaster eingearbeitet oder in Form eines Sprays, insbesondere eines Nasensprays, appliziert werden.

Ein weitere Vorteil der Erfindung liegt in der Anwendbarkeit zur systemischen Therapie von Schmerzen. Um die Therapiemöglichkeiten zu erweitern, können als orale Anwendungsformen Tabletten, Kapseln, Dragees, Granulate, Saft, Sirup, Suspensionen oder Lösungen eingesetzt werden. Hierbei ist die eingesetzte Arzneiform aus biologisch verwertbaren oder biologisch abbaubaren Stoffen ausgebildet, wobei die biologischen Materialien Proteine oder Proteide, Lipide oder Lipoide, Kohlenhydrate oder Polysaccharide, oder Mischungen aus mehreren solcher Materialien sind.

Um die Therapiemöglichkeiten zu erweitern, kann zusätzlich zum erfindungsgemäßen Arzneimittel mindestens ein weiteres Schmerzmittel, bevorzugt der NSAID-Klasse, eingesetzt werden. Dadurch kann eine Ergänzung hinsichtlich der unterschiedlichen Wirkorte und eine Verstärkung hinsichtlich der analgetischen Wirkung erzielt werden.

Bevorzugt beträgt die Konzentration von Mibefradil zwischen 1 und 10 μM , vorzugsweise 3-7, besonders bevorzugt 5 μM .

Beispiele

Die beschriebene Erfindung wird nunmehr durch die folgenden Beispiele erläutert. Verschiedenartige andere Ausgestaltungen werden für den Fachmann aus der vorliegenden Beschreibung ersichtlich. Es wird jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die Beispiele und die Beschreibung lediglich zur Erläuterung vorgesehen und nicht als Einschränkung der Erfindung anzusehen sind.

Untersuchung des Auftretens und der Beeinflussung von spannungsabhängigen Calciumkanälen in D-Haar Mechanorezeptoren

Von den unterschiedlichen Arten von Mechanorezeptoren interessieren im Zusammenhang mit der Schmerzforschung insbesondere die sog. D-Haar Mechanorezeptoren, die mit ihrer hohen Empfindlichkeit ein Paradebeispiel für Berührungsrezeptoren darstellen. Stucky et al. fanden heraus, dass in Mäusen, denen das Gen für das Neurotrophin NT-4 fehlt, ein Verlust von D-Haar Mechanorezeptoren stattfindet (Stucky CL, DeChiara T, Lindsay RM, Yancopoulos GD, Koltzenburg M., Neurotrophin 4 is required for the survival of a subclass of hair follicle receptors. J Neurosci. 1998 Sep 1;18(17):7040-6). Diese Mäuse dienen in vorliegender Erfindung der Detektion von Genen, die spezifisch in D-Haaren exprimiert sind und demnach wichtig für dessen Funktion sein könnten. Dazu wurde die Genexpression von WT und NT-4 ko (knock-out) Mäusen vergleichend analysiert, um Gene zu detektieren, die in NT-4 ko Mäusen unterreguliert waren. Da der einzige Unterschied zwischen WT und NT-4 ko Mäusen hinsichtlich des hautsensorischen Systems der Verlust von D-Haaren ist, waren diese unterregulierten Gene potentielle Kandidaten für D-Haar spezifische Gene. Für die Expressionstudien wurde eine Kombination von Gen-Chip Analyse und DNA-Subtraktionsmethoden angewendet.

Eine kombinierte Analyse der Gen-Chip-Expressionsdaten und der DNA-Subtraktionsdaten resultierte in 29 Genen, die mit großer Wahrscheinlichkeit in NT-4 ko Mäusen unterreguliert sind. Um Gene zu detektieren, die spezifisch in einem Subtyp der Spinalneuronen exprimiert sind, wurde deren Expressionsmuster im Spinalganglion untersucht. Hierzu wurden In-situ-Hybridisierungen mit Dig-markierter cRNA durchgeführt. D-Haar spezifische Gene sollten in mittelgroßen Neuronen exprimiert und in NT-4 ko Mäusen unterreguliert sein.

Alle Gene waren neuronal exprimiert. Zwei Gene erfüllten die oben genannten Kriterien für D-Haar-Spezifität. Es handelt sich um die Gene TrkB und T-Typ Calciumkanal CaV3.2. (Abbildungen 1 und 2)

TrkB ist der zelluläre Rezeptor von NT-4 und BDNF, daher ist eine Unterregulation von TrkB in NT-4 Mäusen zu erwarten gewesen und bestätigt die Brauchbarkeit des vorliegenden experimentellen Ansatzes. Die Erkenntnis aber, dass CaV3.2 spezifisch in D-Haar-Mechanorezeptoren exprimiert ist, ist neu und überraschend, da bislang eine Beteiligung von Calciumkanälen an Mechanosensation nicht bekannt war.

Obwohl T-Typ-Calciumströme schon in den Achtzigern durch elektrophysiologische Studien an sensorischen Neuronen von Hühnern identifiziert worden waren (Fox AP, Nowycky MC, Tsien RW, Kinetic and pharmacological properties distinguishing three types of calcium currents in chick sensory neurones. *J Physiol.* 1987 Dec;394:149-72.), wurden die Gene erst kürzlich kloniert. Der T-Typ Subtyp CaV3.2 besteht aus 2042 Aminosäuren und wurde ursprünglich in Herz kloniert (daher der alternative Name Alpha1H) (Cribbs LL, Lee JH, Yang J, Satin J, Zhang Y, Daud A, Barclay J, Williamson MP, Fox M, Rees M, Perez-Reyes E. Cloning and characterization of alpha1H from human heart, a member of the T-type Ca²⁺-channel gene family. *Circ Res.* 1998 Jul 13;83(1):103-9.), wurde aber später ebenfalls in Niere, Leber und in geringem Masse auch im Gehirn nachgewiesen. Die der vorliegenden Erfindung zu Grunde liegenden Expressionsstudien zeigten, dass CaV3.2 sehr spezifisch in mittelgroßen Spinalganglionzellen exprimiert ist. Im Spinalganglion gibt es zwei Arten von Neuronen mittlerer Größe, die AM- und die D-Haar-Mechanorezeptoren. Aufgrund der durch vorliegende Erfindung gewonnenen Erkenntnisse, dass parallel mit dem Verlust von D-Haaren auch die CaV3.2 positiven Neuronen in NT4 ko Mäusen verschwinden, liegt nahe, dass CaV3.2 spezifisch in D-Haaren exprimiert ist.

Die logische Frage war, welche Rolle dieser Calciumkanal in D-Haar Mechanorezeptoren spielt und ob er unerlässlich für deren Funktion ist. Für diese Studien wurden zwei bekannte Calciumkanal-Blocker, Mibefradil und Nickel, benutzt (Martin RL, Lee JH, Cribbs LL, Perez-Reyes E, Hanck DA, Mibefradil block of cloned T-type calcium channels. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000 Oct;295(1):302-8.) (Lee JH, Gomora JC, Cribbs LL, Perez-Reyes E. Nickel block of three cloned T-type calcium channels: low concentrations selectively block alpha1H. *Biophys J.* 1999 Dec;77(6):3034-42). Mibefradil (siehe Formelblatt 1) ist ein nicht-

Dihydropyridiner Calciumkanal-Antagonist mit einer relativ hohen Selektivität für T-Typ Calciumkanäle. Mibefradil war zur alternativen Behandlung von Bluthochdruck und Angina pectoris bis vor einigen Jahren im Einsatz (Frishman WH, Mibefradil: A New Selective T-Channel Calcium Antagonist for Hypertension and Angina Pectoris. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 1997 Oct;2(4):321-330) (Brogden RN, Markham A.: Mibefradil. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in the management of hypertension and angina pectoris. *Drugs.* 1997 Nov;54(5):774-93. Review), wurde aber aufgrund schwerer Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten vom Markt genommen (Clozel JP, Ertel EA, Ertel SI: Voltage-gated T-type Ca^{2+} channels and heart failure. *Proc Assoc Am Physicians.* 1999 Sep-Oct;111(5):429-37. Review). Die halbeffektive Konzentration von Mibefradil auf Zellen liegt zwischen 0,1 und 1 μM abhängig vom Zellsystem (Martin et al., 2000, siehe oben). Mibefradil ist jedoch in nahezu identischem Ausmass auch auf die beiden anderen T-typ Isotypen $\text{CaV}3.1$ und $\text{CaV}3.3$ gleichsam wirksam. Der andere Blocker Nickel hat eine 70 mal höhere EC_{50} auf $\text{CaV}3.2$ als auf die anderen Isotypen (ca. 10 μM auf $\text{CaV}3.2$ und 216 μM $\text{CaV}3.3$ und 250 μM auf $\text{CaV}3.3$). Jedoch ist Nickel cytotoxisch, so dass es sich für pharmakologische Untersuchungen am lebenden Gewebe nur bedingt eignet und für medikamentöse Einsätze gar nicht in Betracht kommt.

Die vorliegende Erfindung zu Grunde liegende Methode der Haut-Nerv-Präparation ermöglicht die elektrophysiologische Untersuchung der unterschiedlichen Nervenfasertypen, die die Haut innervieren (Koltzenburg et al, 1997, siehe oben). Aus frisch getöteten Mäusen wird der Nervus Saphenus und der Hautbereich, den er innerviert, herauspräpariert und in ein Bad mit physiologischem Puffer aufgespannt. Nach mechanischer oder elektrischer Reizung der Haut können die Nervensignale direkt vom Nerven abgeleitet werden. Zur Feststellung der wirksamen Konzentration wurden Versuche mit unterschiedlichen Konzentrationen an Mibefradil in der Badlösung durchgeführt. Die halbeffektive Konzentration von Mibefradil auf Zellen liegt zwischen 0,1 und 1 μM . Bei hohen Konzentrationen von über 25 μM Mibefradil in der Badlösung trat eine nahezu vollständige und unspezifische Blockierung der mechanischen Sensibilität ein. Senkt man die Konzentration auf 3 μM , werden D-Haar-Mechanorezeptoren und z.T. auch AM Mechanorezeptoren spezifisch gehemmt, die A- β -Fasern aber nicht. Die unspezifische Blockierung bei hohen Konzentrationen mag darauf zurückzuführen sein, dass Mibefradil bei hohen Konzentrationen einen sehr unspezifischen Effekt auf andere, ubiquitär exprimierte Calciumkanäle besitzt. Diese Blockierung geht bei

niedrigeren Konzentrationen verloren. Die Blockierung von einigen AM-Mechanorezeptoren auch bei niedrigen Mibefradil-Konzentration könnte zwei Gründe haben. Die erste Möglichkeit besteht darin, dass auch AM-Mechanorezeptoren CaV3.2 exprimieren. Dies ist aber aufgrund der Erkenntnisse, die durch die In-situ-Hybridisierung im Rahmen der vorliegenden Erfindung gewonnen wurden, wenig wahrscheinlich. Vielmehr liegt die Vermutung nahe, dass in AM-Mechanorezeptoren ein anderer Isotyp, nämlich CaV3.3 exprimiert ist. Es war nicht möglich, CaV3.3 in In-situ-Hybridisierungsexperimenten in Spinalganglien nachzuweisen, aber andere Gruppen berichteten die Expression dieses Calciumkanals in mittelgroßen Zellen. Und es ist bekannt, dass die halbeffektive Konzentration von Mibefradil auf CaV3.3 nahezu identisch ist wie auf CaV3.2. Zusammenfassend wird geschlossen, dass der Calciumkanal CaV3.2 im Spinalganglien spezifisch in D-Haar-Mechanorezeptoren exprimiert und unentbehrlich für dessen Funktion ist. Die Entdeckung, dass spannungsabhängige Calciumkanäle an der Transduktion von mechanischen Stimuli durch nozizeptive und non-nozizeptive Neurone beteiligt sind, ist neu. Durch ihre physiologischen Eigenschaften zusammen mit ihrer spezifischen Lokalisation am Ort der Mechanotransduktion in der Peripherie sind die Calciumkanäle ideale Targets für die Schmerztherapie, worauf die Erfindung basiert.

Funktionelles Modell

Es ist wenig wahrscheinlich, dass es sich bei diesem T-typ Calciumkanal um den mechanosensitiven Ionenkanal handelt, der für die Generierung des Rezeptorpotentials verantwortlich ist. Vielmehr wird geschlossen, dass dieser Calciumkanal eine Art Signalverstärker darstellt. Mäßig starke Depolarisierungen, die durch leichte mechanische Reize ausgelöst werden, überschreiten normalerweise die Schwelle zur Initiierung eines Aktionspotentials nicht. Durch die Zwischenschaltung eines Ionenkanals, der schon bei niedrigen Spannungen aktiviert wird, könnte eine Signalverstärkung erreicht werden und dies würde eine simple Erklärung für die hohe Empfindlichkeit von D-Haar Mechanorezeptoren darstellen. CaV3.2 verfügt über ideale Voraussetzungen, um eine solche Aufgabe zu erfüllen, da es schon bei niedrigen Spannungen aktiviert wird. Ein weiteres D-Haar-rezeptor-Merkmal ist seine schnelle Adaptation. D.h. sie feuern nur zu Beginn und zum Ende eines mechanischen Stimulus, sind also Beschleunigungsrezeptoren. CaV3.2 besitzt die Eigenschaft, bei schnell hintereinander folgenden Reizen zu deaktivieren. Dies ist mit der schnell adaptieren Eigenschaft von D-Haar-Rezeptoren sehr gut vereinbar.

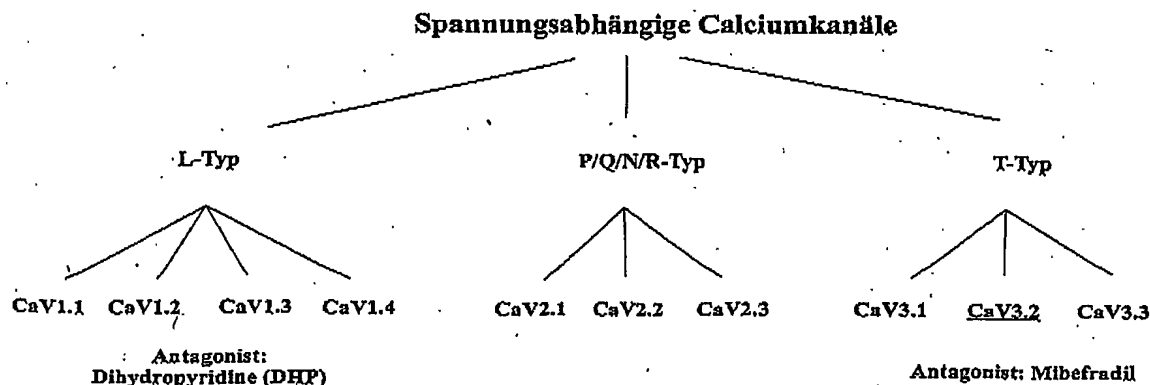
Therapeutischer Ansatz

Die erfindungsgemäßen Versuche wurden an Mäusen durchgeführt. Das menschliche CaV3.2 zeigt eine sehr hohe genetische Homologie und übernimmt höchstwahrscheinlich ähnliche Funktionen. Die neue Erkenntnis, dass durch den Einsatz eines Calciumkanalblockers (z.B. durch Mibefradil bei schon mittleren Konzentrationen (25 μ M oder niedriger)) praktisch die gesamte kutane Mechanotransduktion unterbunden wird, ist vor allem bei der Behandlung von Allodynia nützlich. Dies sind pathologische Zustände, in denen der Mensch leichte mechanische Reize auf die Haut, die im normalen Zustand lediglich als leichte Berührung oder Kitzel wahrgenommen werden, als Schmerz empfindet. Dies findet wahrscheinlich über eine Veränderung der Verschaltungen im Rückenmark statt.

Eine Blockierung der mechanischen Sensibilität der Haut durch systemische oder topische Zugabe von Calciumkanalblockern wie Mibefradil ist für die Behandlung solcher Zustände von großer Bedeutung.

Ausweitung der Anwendungsmöglichkeiten

Die erfindungsgemäßen Daten beziehen sich konkret auf den Calcium Kanal CaV3.2, einem Subtyp der spannungsabhängigen Calcium-Kanäle, jedoch bestehen Hinweise, dass eine Blockierung anderer spannungsabhängiger Calciumkanäle ebenfalls zur Behandlung der genannten Schmerzen eingesetzt werden kann. Bei der Anwendung höherer Konzentrationen von Mibefradil trat nämlich eine komplexe Blockierung von anderen Mechanorezeptoren ein, welche andere Calciumkanäle besitzen. Die Gruppe der spannungsabhängigen Calciumkanäle kann wie folgt klassifiziert werden:



Mibefradil blockiert also in höheren Konzentrationen nicht nur die D-Haar Mechanotransduktion, sondern die gesamte Mechanotransduktion. Dies ist vermutlich auf eine Blockierung von anderen spannungsabhängigen Calciumkanälen, insbesondere des L- und N-Typs, zurückzuführen ist. N-Typ Calciumkanäle sind in allen sensorischen Neuronen exprimiert, während der L-typ vornehmlich in kleinen Zellen exprimiert ist (Scroggs RS, Fox AP; Calcium current variation between acutely isolated adult rat dorsal root ganglion neurons of different size. J Physiol. 1992 Jan;445:639-58) und werden durch Mibefradil in höheren Konzentrationen blockiert (ca. 10fach höher als zur T-typ-Blockierung benötigt) (Mehrke G, Zong XG, Flockerzi V, Hofmann F. The Ca^{++} -channel blocker Ro 40-5967 blocks differently T-type and L-type Ca^{++} channels. J Pharmacol Exp Ther. 1994 Dec;271(3):1483-8). Deshalb können auch Dihydropyridine, die effektiveren L-Typ Blocker, zur Behandlung von den genannten Schmerzzuständen angewandt werden. Dihydropyridine sind schon im klinischen Einsatz, wie Mibefradil zur Behandlung von Bluthochdruck (Reuter H, Porzig H, Kokubun S, Prod'hom B.; Calcium channels in the heart. Properties and modulation by dihydropyridine enantiomers. Ann N Y Acad Sci. 1988;522:16-24. Review.).

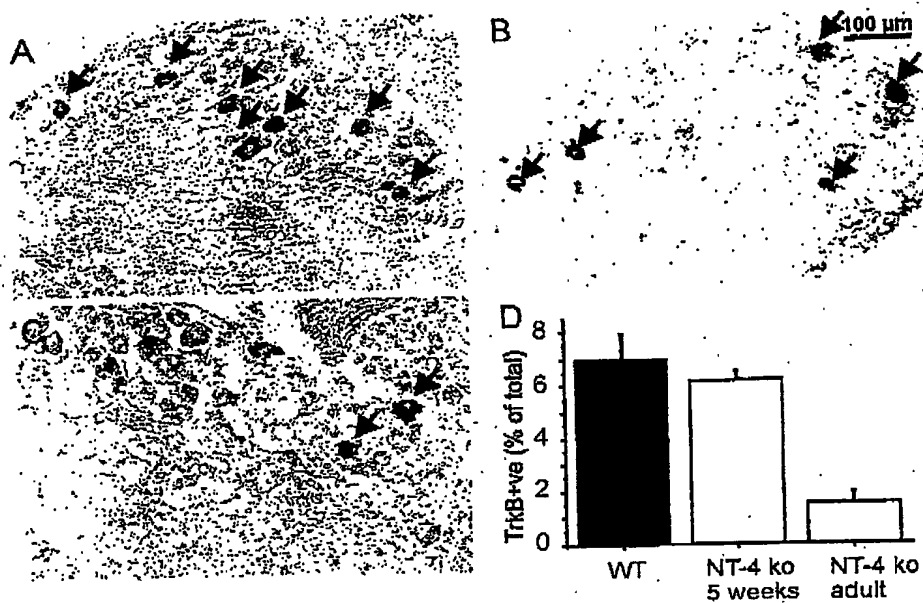
13.06.2002 14:00

Patentansprüche:

1. Arzneimittel zur Behandlung von akuten und/oder chronischen Schmerzen, insbesondere Allodynia und Hyperalgesia, umfassend Calciumkanalblocker, die geeignet sind, spannungsabhängige Calciumkanäle, insbesondere des T-Typs, besonders bevorzugt des CaV3.2-Kanals, und/oder des L-Typs zu blockieren.
2. Arzneimittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Calciumkanalblocker Mibefradil eingesetzt wird.
3. Arzneimittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als Calciumkanalblocker Dihydropyridine eingesetzt werden.
4. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3 zur Schmerzbehandlung bei rheumatoider Arthritis, Entstehung und Wachstum von Tumoren, Verletzungen, Rückenschmerzen, Herpes Zoster und post-operativen Schmerzen.
5. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3 zur Applikation in lokaler, oraler, parenteraler, inhalativer oder intranasaler Form.
6. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß sich die neue Indikation Schmerz auf alle technisch möglichen Arzneiformen von Mibefradil, seiner pharmazeutisch verträglichen Analoge und von Dihydropyridinen bezieht.
7. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3, wobei das Arzneimittel in Form einer Salbe, eines Gels oder einer Creme oder einer Lösung oder Suspension vorliegt.
8. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3, wobei das Arzneimittel in ein Pflaster eingearbeitet ist.
9. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3, wobei das Arzneimittel in Form eines Sprays, insbesondere eines Nasensprays, vorliegt.
10. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3 zur systemischen Therapie von Schmerzen.

11. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet daß als orale Anwendungsformen Tabletten, Kapseln, Dragees, Granulate, Saft, Sirup, Suspensionen oder Lösungen eingesetzt werden.
12. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die eingesetzte Arzneiform aus biologisch verwertbaren oder biologisch abbaubaren Stoffen ausgebildet ist, wobei die biologischen Materialien Proteine oder Proteide, Lipide oder Lipoide, Kohlenhydrate oder Polysaccharide, oder Mischungen aus mehreren solcher Materialien sind.
13. Arzneimittel nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich mindestens ein weiteres Schmerzmittel eingesetzt wird.
14. Arzneimittel nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß das in Kombination eingesetzte Schmerzmittel ein NSAID, ein 5HT_{1D} Agonist, ein Dopamin-D-Rezeptorantagonist, ein Secale-Alkaloid, ein Betablocker, ein Calciumkanalblocker oder ein Neurokinin-Antagonist ist.
15. Arzneimittel nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß das NSAID Ibuprofen, Meoxicam, Indomethacin oder Naproxen ist.
16. Arzneimittel nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß der 5HT_{1D} Agonist Sumatriptan, MK-452, Naratriptan oder 311C ist.
17. Arzneimittel nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß der Dopamin-D₂-Rezeptorantagonist Metoclopramid ist.
18. Arzneimittel nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß das Secale-Alkaloid Ergotamin, Dihydroergotamin oder Metergolin ist.
19. Arzneimittel nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß der Betablocker Propranolol oder Metoprolol ist.

20. Arzneimittel nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß der Kalziumkanalblocker Flunarizin oder Lomerizin ist.
21. Arzneimittel nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß das in Kombination einzusetzende Schmerzmittel Acetylsalicylsäure, Paracetamol, Clonidin, Methysergid, Dotarizin, Lisurid, Pizotifen, Valproat, Aminotriptilin CP-122,288 oder UK 116, 044 ist.
22. Verwendung des Arzneimittels nach Anspruch 1 und 2, wobei die Konzentration von Mibefradil zwischen 1 und 10 μM , vorzugsweise 3-7, besonders bevorzugt 5 μM beträgt.



Die Abbildung zeigt die zelluläre Expression Lokalisation von TrkB mRNA im Hinterwurzelganglion.

A: TrkB positive Zellen (mit Pfeilen markiert) im WT

B: TrkB positive Zellen in jungen (4 Wochen alten) NT4 knockout Mäusen

C: TrkB positive Zellen in adulten (12 Wochen alten) NT4 knockout Mäusen

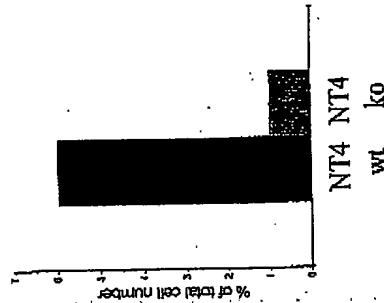
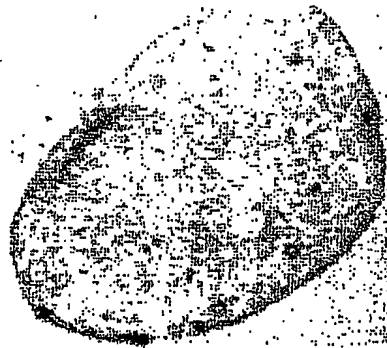
D: Quantifizierung der TrkB positiven Zellen

Abb. 1

CaV3.2 Expression

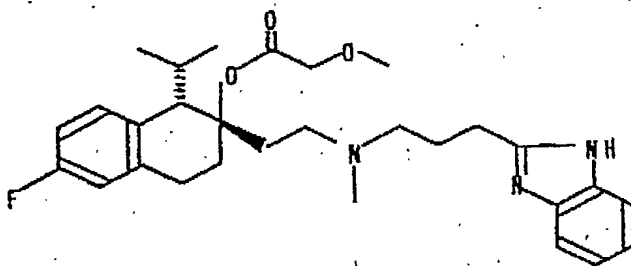
NT4 Wildtyp

NT4 KO



Die In-situ Hybridisierung zeigt die zelluläre Lokalisation von CaV3.2 mRNA im Hinterwurzelganglion. CaV3.2 ist im Wildtyp in ca. 6% der Zellen (mittelgroße Zellen) exprimiert, und im NT4 knockout Mäusen ist die Anzahl der CaV3.2 positiven Zellen auf ca. 1% reduziert. Dies ist ein eindeutiger Hinweis, dass CaV3.2 spezifisch in D-Haar Mechanorezeptoren exprimiert ist.

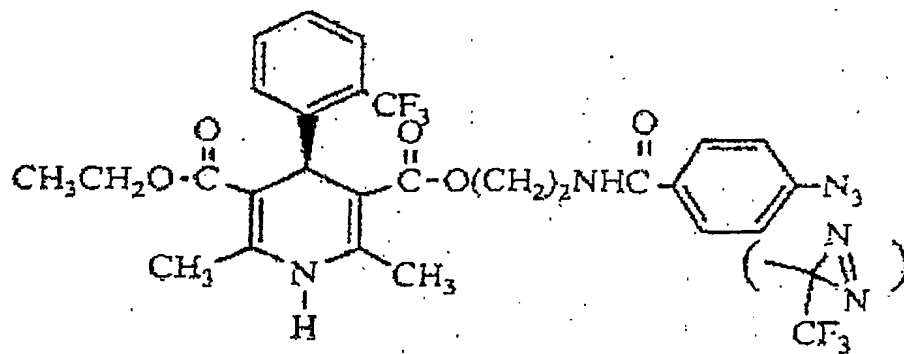
Abb. 2



(1S,2S)-2-[2-[(3-(2-Benzimidazolyl)propyl)
methylamino]ethyl]-6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydro-
1-isopropyl-2-naphthyl methoxyacetate
dihydrochloride

Mibefradil

Formelblatt 1



azidopine (*diazepine*)

Formelblatt 2

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.